Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 1, Mar.-Apr., 2024, p. 19-34

The Effect of Production Method and Simultaneous Use of Whey Protein Concentrate and Transglutaminase Enzyme on Rheological Characteristics and Microstructure of Doogh

M. Hadian[1], M. Mazaheri Tehrani[2*], M. Ghods Rohani[3]

1 and 2- Former M.Sc. Student and Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(*- Corresponding Author Email: mmtehrani@um.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Food Science and Industry, Research and Education Center Khorasan Razavi Agriculture and Natural Resources, Research, Education and Promotion Organization Agriculture, Mashhad, Iran

Received: 13.03.2022 Revised: 18.06.2022 Accepted: 25.10.2022 Available Online: 26.10.2022	**How to cite this article:** Hadian, M., Mazaheri Tehrani, M., & Ghods Rohani, M. (2024). The effect of production method and simultaneous use of whey protein concentrate and transglutaminase enzyme on rheological characteristics and microstructure of Doogh. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 20*(1), 19-34. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74657.1134

Introduction

Doogh is a fermented dairy product that is produced by blending yogurt with water and some salt. This fermented beverage is widely consumed as a refreshing drink in Iran and other Middle East countries. Doogh is a source of calcium needed by the body on a daily basis and contains B vitamins that are effective in the health and strength of teeth and bones. In addition, doogh contains a low percentage of fat, which makes it a diet drink. Whey Protein Concentrate (WPC) is a product contains 25 to 89% protein and different amounts of lactose, fat and minerals. Due to the functional properties of whey protein and its nutritional value; whey protein is widely used in dairy products. The development of cross-linking bonds between protein chains by enzymes is very important today. Enzyme cross-linking of proteins can affect some of their functional properties such as solubility, water absorption, rheological and emulsifying properties. One of the most widely used enzymes in the food industry is the transglutaminase enzyme. In this study the effects of WPC in three levels (0%,1% and 2%) and the transglutaminase enzyme in two levels (0 and 1 unit per gram of milk protein) in two method of dough preparation (adding water to yogurt and fermented milk diluted with water) on rheological characteristics, and microstructure of doogh were studied.

Material and Methods

Raw milk was provided by Pegah Khorasan Company, WPC from Multi Company(Mashhad) and Trans glutaminease enzyme from BDF Company of Spain. WPC was first added to milk at 45˚C at three levels of zero, 1 and 2%.The milk samples were then pasteurized at 85˚C for 30 min. After lowering the temperature to 45˚C, the enzymatic operation was performed at two levels of zero and one unit (per gram of protein).To complete the enzyme function, the samples were incubated for 180 minutes at 45˚C. Then a temperature of 90˚C was applied for 1 minute to inactivate the enzyme. The samples were then cooled to 45 ˚C. At this stage, the samples were divided into two parts. In one part of the samples; milk was diluted with water in a ratio of 6% of the total dry matter for direct production of doogh. After adding the starter, the samples were transferred to an incubator and hold at 43-42˚C, until the pH reaches about 4.1.Thefermented samples were then transferred to a refrigerator. In the second part, starter was added to milk to produce yogurt; after adding starter,

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74657.1134

the mix was transferred to an incubator and hold at 43-42 $^{\circ}$C, until the pH reaches about 4.1. Doogh was produced by diluting yogurt with waterto givethe final product with 6% of total dry matter.

Results and Discussion

In both production methods, in samples treated only with WPC, the average particle size increased with increasing WPClevel. In both methods, the production of only enzymatically treated samples led to the formation of smaller particles with a more uniform shape and distribution. In samples of doogh produced by both production methods, WPC and transglutaminase enzyme changed the flow characteristics of doogh to non-Newtonian behavior. Samples made directly from milk had significantly higher viscosity than samples made from yogurt. In samples without enzymatic treatment, the microstructure was smooth and homogeneous with smaller particles than other samples. These particles settle very quickly. In the samples where WPC treatment was applied, the amount of large particles and non-uniformity increase with increasing WPC level. The distribution of particles in samples made directly from milk was more regular than samples made from yogurt.

Keywords: Doogh, Rheology, Serum separation, Transglutaminase, Whey protein concentrate

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۲۰، شماره ۱، فروردین- اردیبهشت ۱۴۰۳، ص. ۳۴-۱۹

بررسی اثر روش تولید و کاربرد همزمان کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر ویژگی‌های رئولوژیکی و ریزساختاری دوغ

محمد هادیان[1]- مصطفی مظاهری طهرانی[2]*- محسن قدس روحانی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۰۳

چکیده

دوغ فرآورده لبنی تخمیری است که در سطح وسیعی به‌عنوان یک نوشیدنی پر طرفدار در ایران و سایر کشورهای خاورمیانه مصرف می‌شود. یکی از عمده‌ترین مشکلات در این محصول دو فاز شدن آن پس از تولید و در طی مدت زمان نگهداری می‌باشد؛ که این مسئله ناشی از بزرگ بودن ذرات کلوئیدی دوغ، پایین بودن pH محصول و در نهایت تجمع کازئین‌ها است. در این پژوهش اثر کنسانتره پروتئین آب پنیر (WPC) در سه سطح (۰، ۱ و ۲ درصد) به همراه آنزیم ترانس گلوتامیناز در دو سطح (صفر و یک واحد به ازای هر گرم پروتئین شیر) در دو روش آماده‌سازی دوغ (یکی افزودن آب به ماست و دیگری تخمیر شیر رقیق شده با آب) بر روی خصوصیات رئووژیکی و ریزساختاری دوغ مورد بررسی قرار گرفت. افزودن WPC و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) سبب افزایش ویسکوزیته در محدوده ۲۰۰ تا ۲۵۰ میلی‌پاسکال ثانیه و افزایش رفتار شل‌شوندگی دوغ نسبت به کنترل گردید. این نتایج نشان می‌دهد که WPC سبب ایجاد شبکه ژل در دوغ گردیده که آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با مرتب کردن این ساختار سبب بهبود خصوصیات فیزیکی و پایداری نمونه‌های دوغ شد؛ که بررسی ریزساختار نمونه‌های دوغ نیز مؤید این مسئله می‌باشد. روش تهیه دوغ هم عامل تأثیرگذار دیگری در ویژگی‌های فیزیکی این محصول بود. نمونه‌هایی که به‌صورت مستقیم از شیر رقیق شده بدست آمدند خصوصیات فیزیکی بهتری نسبت به نمونه‌هایی که پس از افزودن آب به ماست تولید شدند از خود نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: ترانس گلوتامیناز، دوغ، دوفاز شدن، رئولوژی، کنسانتره پروتئین آب پنیر

مقدمه

دوغ یکی از نوشیدنی‌های سنتی ایرانیان و برخی ملل دیگر در اروپای شرقی و خاور میانه به‌شمار می‌آید (Foroughi-nia *et al.*, 2007) دوغ به‌عنوان یک نوع شیر تخمیری سالم و مفید است که از منابع تأمین کننده کلسیم مورد نیاز روزانه بدن بوده و حاوی ویتامین‌های گروه (ب) است که در سلامت و استحکام دندان‌ها و استخوان‌ها مؤثرند. به‌علاوه، دوغ محتوی درصد پایین چربی است که این محصول را به عنوان یک نوشیدنی رژیمی مطرح ساخته است (Nilson *et al.*, 2006).

برای تولید دوغ سه روش وجود دارد: روش اول که روش سنتی تولید دوغ نیز می‌باشد؛ شامل رقیق کردن ماست با آب، سپس جدا کردن چربی با استفاده از همزنی که از مشک استفاده می‌شود (Kiani *et al.*, 2009). ماست را می‌توان با آب آشامیدنی، آب معدنی، آب پنیر تخمیر شده و یا دوغ کره رقیق کرد (Foroghi-nia *et al.*, 2009). در روش دوم، چربی شیر برای تولید ماست تنظیم شده و دوغ با

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mmtehrani@um.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران
https://doi.org/10.22067/ifstrj.2022.74657.1134

اختلاط و همگن کردن آب و ماست تولید می‌گردد که این روش در صنعت کاربرد بیشتری دارد. در روش سوم، عمل تخمیر بر روی شیر مورد استفاده برای دوغ که دارای ترکیب استاندارد است، صورت می پذیرد (Kiani *et al*., 2009 ؛Koksoy and Kilic, 2004).

کنسانتره پروتئین آب پنیر[1] محصول تغلیظ پروتئین آب پنیر در محدوده ۲۵ تا ۸۹ درصد پروتئین و مقادیر متفاوت لاکتوز، چربی و مواد معدنی می‌باشد. به‌دلیل خواص عملکردی پروتئین‌های آب پنیر و ارزش تغذیه‌ای آن، استفاده از فرآورده‌های پروتئینی آب پنیر در فرآورده‌های لبنی کاربرد زیادی دارد. ماست و فرآورده‌های آن مانند ماست نوشیدنی، گروهی از فرآورده‌های لبنی هستند که WPC با اهداف مختلفی مانند جانشین چربی در فرآورده‌های کم‌چرب، کمک به زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، بهبود بافت و ظرفیت نگهداری آب، به آن‌ها افزوده می شود. بررسی ریزساختار ماست کم‌چرب حاوی WPC (به‌عنوان جایگزین چربی) نشان می‌دهد که پروتئین آب پنیر دناتوره شده از طریق ایجاد پیوند با میسل‌های کازئین و پر کردن حفرات ناشی از حذف چربی، ریزساختار و ویژگی‌های بافتی مشابه با ماست پرچرب دارد (Sandoval-Castilla *et al*., 2004). نتایج نشان می‌دهد افزودن WPC باعث کاهش آب‌اندازی، افزایش قوام و افزایش مطلوبیت ماست کم‌چرب می‌شود. ماست کم‌چرب حاوی WPC دارای شبکه پروتئین فشرده با اندازه ذرات بزرگ‌تر و تخلخل کمتر نسبت به نمونه شاهد است.

ایجاد پیوندهای عرضی بین زنجیره های پروتئینی توسط آنزیم، امروزه بسیار مورد توجه می‌باشد. اتصال عرضی پروتئین‌ها با آنزیم می تواند برخی خصوصیات عملکردی آنها نظیر حلالیت، جذب آب، خصوصیات رئولوژیکی و امولسیون‌کنندگی را تحت تأثیر قرار دهد (Lorenzen *et al*., 2002). یکی از آنزیم‌هایی که به‌طور گسترده در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز است. در بین پروتئین‌های شیر، کازئین سوبسترای بسیار مناسبی برای آنزیم ترانس گلوتامیناز می باشد. در مقایسه با کازئین ها، پروتئین های آب پنیر دارای ساختار کروی بوده، و دارای نقاط کمتری برای ایجاد اتصال می باشند، که دلیل اصلی آن را می توان به پایداری پیکربندی پروتئین های آب پنیر، در نتیجه اتصالات سولفیدی مرتبط دانست که موجب محدود شدن مناطق در دسترس برای ایجاد اتصالات بین مولکولی می گردد. با این حال با دناتوراسیون پروتئین های آب پنیر از هر دو طریق تیمار حرارتی یا افزودن مواد احیاء کننده می توان حساسیت آنزیمی را بهبود بخشید. به طوری که بر اساس گزارش محققین استفاده از آنزیم بعد از فرآیند حرارتی (۹۰درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه) منجر به بهبودی ساختاری دوغ (Shirkhani *et al*., 2015) و ماست قالبی می شود (Sanli *et al*., 2011).

در پژوهشی تاثیر افزودن پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز بر خواص فیزیکی و حسی بستنی کم‌چرب مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از آن بود که افزودن پروتئین آب پنیر با تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز، خواص فیزیکی و حسی بستنی کم‌چرب را بهتر از افزودن پروتئین آب پنیر یا تیمار آنزیمی به تنهایی بهبود می‌بخشد (Jooyandeh *et al*., 2017). در مطالعه‌ای تأثیر ادغام پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به‌عنوان جایگزین چربی در فرمولاسیون پنیر سفید کم‌چرب ایرانی مورد بررسی قرار گرفت که گنجاندن پروتئین‌های آب پنیر با واسطه آنزیم در پنیر کم‌چرب باعث افزایش قابل‌توجه نسبت رطوبت به پروتئین با کاهش همزمان پارامترهای رئولوژیکی (سختی، مدول یانگ، مدول ذخیره‌سازی) شد (Jooyandeh *et al*., 2018). در مطالعه‌ای دیگر بهینه‌سازی تولید پنیر فراپالایش کم‌چرب با استفاده از تلفیق پروتئین‌های آب پنیر و تیمار آنزیمی به روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد که کاهش چربی باعث افزایش معنی‌دار سفتی، ارتجاع‌پذیری و میزان رطوبت می‌شود، اما چسبندگی و امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های پنیر کاهش می‌یابد. برخلاف WPC، تیمار آنزیمی با ترانس‌گلوتامیناز سفتی، پیوستگی و ارتجاع‌پذیری را بطور معنی‌داری افزایش داد اما میزان رطوبت و چسبندگی پنیر را کاهش داد (Jooyandeh *et al*., 2017).

در مطالعه‌ای دیگر تأثیر آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و صمغ ایرانی بر ویژگی‌های نوشیدنی سنتی کفیر مورد بررسی قرار گرفت که نتایج حاکی از آن بود که افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز همراه با صمغ ایرانی منجر به افزایش pH، اندازه ذرات و ویسکوزیته و در عین حال باعث کاهش اسیدیته قابل تیتراسیون، سینرزیس و پتانسیل زتا می‌شود (Hojjati *et al*., 2021). در پژوهشی تأثیر تیمار آنزیمی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز پس از پاستوریزاسیون شیر و متعاقب آن اضافه کردن آب و تخمیر کمترین جدا شدن سرم در طول نگهداری را در پی داشت. دلیل افزایش پایداری نمونه‌ها به بالا رفتن ویسکوزیته و مدول ذخیره آن‌ها در اثر بکارگیری آنزیم و هم‌شکلی بیشتر ذرات پروتئینی نسبت داده شد. همچنین تیمار با آنزیم منجر به سفیدی بیشتر نمونه‌ها و ریز ساختار میکروسکوپی منظم‌تر و منافذ ریزترحاوی آب شد (Shirkhani *et al*., 2015).

به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالای WPC و نیز آثار مثبت WPC و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر ویژگی‌های دوغ، این تحقیق با هدف مطالعه تأثیر روش تولید و استفاده همزمان پروتئین‌های آب پنیر تغلیظ شده و

1- Whey Protein Concentrate (WPC)

آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر ویژگی‌های رئولوژیکی شامل رفتار جریان، تنش تسلیم، رفتار شل‌شوندگی، توزیع اندازه ذرات و ویژگی‌های ریزساختاری دوغ انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد

شیر مورد استفاده با ماده خشک بدون چربی ۸/۵ درصد و چربی ۱/۵ درصد از شرکت پگاه خراسان تهیه شد. WPC (WPC80) از شرکت مولتی مشهد و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با میانگین فعالیت ۱۰۰ واحد در گرم از نمایندگی شرکت BDF اسپانیا تهیه شد. ترکیب شیمیایی WPC در جدول ۱ ارائه شده است.کشت‌های آغازگر از نمایندگی شرکت Danisco با نام تجاری Yo-mix 211، نمک طعام تجاری از فروشگاه‌های محلی و آب بدون یون با دستگاه اسمز معکوس تهیه شد.

جدول ۱- ترکیب شیمیایی کنسانتره پروتئین آب پنیر مورد استفاده در این پژوهش (بر حسب درصد)

Table 1- The chemical composition of Whey Protein Concentrate (WPC) used in this research (in percentage)

لاکتوز Lactose	خاکستر Ash	چربی Fat	رطوبت Humidity	پروتئین برحسب وزن مرطوب Protein by wet weight
<17	2.96	0.4	5.53	82.77

تولید دوغ

ابتدا به شیر با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، WPC در سه سطح صفر، ۱ و ۲ درصد به‌صورت وزنی-وزنی نسبت به شیر اضافه شد. مقدار WPC و آب تقطیر شده به میزانی به نمونه‌های شیر اضافه گردید که ماده خشک نهایی تمام نمونه‌های شیر ۱۰ درصد باشد. سپس مخلوط به آرامی بهم زده شده تا کاملا یکنواخت گردد. نمونه‌های شیر در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه شده (Shahidi *et al.*, 2013) و پس از کاهش دما تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد.عملیات آنزیم زنی در دو سطح صفر و یک واحد (به ازای هر گرم پروتئین) انجام شد. برای تکمیل عملکرد آنزیم، نمونه‌ها به مدت ۱۸۰ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید (Shirkhani *et al.*, 2015). سپس عملیات حرارتی ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه برای غیر فعال کردن آنزیم اعمال شد (Shirkhani *et al.*, 2015). سپس نمونه ها تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک شد. در این مرحله نمونه‌ها به دو بخش تقسیم گردید. در یک بخش از نمونه‌ها (برای تولید مستقیم دوغ از شیر)، شیر با آب به نسبتی که محصول نهایی دارای ۶ درصد ماده خشک کل باشد رقیق شد، سپس عملیات هموژنیزاسیون در دمای ۶۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد و فشار هموژن ۱۰۰ بار توسط هموژنایزر آزمایشگاهی (FT9 Homogeniser, Armfield, England) انجام گردید سپس تا دمای مطلوب تلقیح استارتر سرد شد (۴۳-۴۲ درجه سانتی‌گراد) و پس از استارترزنی (به میزان ۲ درصد) به گرمخانه ۴۳-۴۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شد، تا زمانی‌که pH به حدود ۴/۱ رسید؛ سپس تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد خنک شد، و ۰/۵ درصد نمک طعام اضافه شد و پس از اختلاط، به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. در بخش دوم نمونه‌ها (برای تولید دوغ با استفاده از ماست) بعد از غیر فعال کردن آنزیم و خنک کردن تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، عملیات استارترزنی (به میزان ۲ دصد) انجام شد، سپس به گرمخانه با دمای ۴۳-۴۲ درجه سانتی‌گراد منتقل شد؛ تا این که pH به حدود ۴/۱ رسید. ماست تولیدی به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد خنک شد. از ماست تولیدی جهت تولید دوغ استفاده شد، و از رقیق کردن ماست با محلول آب و نمک طعام دوغ تولید گردید. فرمولاسیون نمونه‌ها به گونه‌ای تنظیم شد که محصول نهایی دارای ۰/۵ درصد نمک طعام و ۶/۵ درصد ماده خشک کل باشد، سپس عملیات هموژنیزاسیون انجام شد، و نمونه‌ها در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه‌داری شد.

آزمون‌ها

آزمون رفتار جریان

جهت اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌ها از دستگاه ویسکومتر هندسه استوانه و کاسه Ultra Rheometer, Brookfield DV_{III} (ساخت آمریکا) استفاده گردید. نمودارهای تنش برشی و ویسکوزیته برای نمونه های مختلف در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد (دمای نگهداری و مصرف دوغ) با اسپیندل C4-18 بدست آمد. برازش مدل‌های رفتار جریان با استفاده از نرم‌افزار Matlab انجام شد و سه شاخص R^2، SSE و RMSE برای ارزیابی مدل برازش یافته طبق معادله ۱ و ۲ استفاده گردید.

$$\sum_{i=1}^{N}(X_{ei}-X_{pi})^2 \qquad (۱)$$

$$RMSE=[1/N\sum_{i=1}^{N}(X_{ei}-X_{pi})^2]^{0.5} \qquad (۲)$$

در روابط فوق X_{ei} داده حاصل از آزمایش و X_{pi} مقدار محاسبه شده توسط مدل برازش یافته و N تعداد داده‌های آزمایش است. مقادیر

بالاتر R^2 و مقادیر کمتر SSE و RMSE به معنی برازش بهتر مدل است.

بررسی ریزساختار

جهت مشاهده توزیع ذرات کلوئیدی و ریزساختار دوغ از روش کیانی و همکاران (Kiani *et al.*, 2010) استفاده شد. ۰/۵ میلی‌لیتر رنگ Rhodamin B با غلظت ۰/۰۵ وزنی- حجمی به ۹/۵ میلی‌لیتر از نمونه دوغ اضافه و سپس با آب بدون یون، ۱۰ برابر رقیق شد. از میکروسکوپ نوری Olympus BX41 (ساخت ژاپن) مجهز به دوربین دیجیتال با قابلیت ایجاد فاز متضاد[1] و زمینه تاریک[2] برای مشاهده نمونه ها بلافاصله پس از رنگ‌آمیزی استفاده شد. رودامین با پروتئین‌ها واکنش غیر کووالان داده و باعث شفاف شدن و تمایز آن‌ها در زیر نور معمولی می‌گردد.

تعیین اندازه ذرات

تعیین اندازه ذرات، ۲۴ ساعت پس از تولید، با استفاده از دستگاه تعیین اندازه ذرات Shimadzu-SALD210 (ساخت ژاپن) براساس پراش‌سنجی اشعه لیزر انجام شد. شاخص‌های d(0.1)، d(0.5) و d(0.9)که به‌ترتیب اندازه ذرات در ۱۰، ۵۰ و ۹۰ درصد منحنی تجمعی است، براساس نمودار توزیع اندازه ذرات تعیین می‌شود. قطر متوسط ذرات D[4,3] بر اساس معادله ۳ که در این رابطه n_i تعداد ذرات با قطر d_i می‌باشد. و پهنای توزیع ذرات (اسپان)[3] براساس معادله ۴ بدست آمد.

$$D[4,3]=\frac{\sum_i^n d_i^4\ n_i}{\sum_i^n d_i^3\ n_i} \qquad (۳) \text{ معادله}$$

$$Span=\frac{d(0.9)-d(0.1)}{d(0.5)} \qquad (۴) \text{ معادله}$$

طرح آماری و تجزیه و تحلیل نتایج

آزمایش‌ها در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی، در دو تکرار انجام پذیرفت. تحلیل‌های آماری آنالیز واریانس با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام پذیرفت و نمودارها با نرم‌افزار MS EXCEL رسم شد.

نتایج و بحث

اندازه ذرات

شاخص‌های محاسبه شده براساس توزیع اندازه ذرات در جدول ۳ (دوغ تولیدی از شیر) و جدول ۴ (دوغ تولیدی از ماست) ارائه شده است.

در هر دو روش تولید در نمونه‌هایی که فقط با WPC تیمار شدند با افزایش درصد WPC، قطر متوسط ذرات نیز افزایش یافت. به‌طوری‌که نمونه‌های حاوی ۱ درصد WPC تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های حاوی ۲ درصد WPC داشتند. WPC طی حرارت‌دهی با تشکیل ذرات ژل زمینه ایجاد ذرات بزرگی را فراهم می‌کند و در نهایت یک شبکه سه بعدی را ایجاد می‌کند. وجود ذرات بزرگ در نمونه‌های حاوی WPC و برخوردهای بیشتری که بین این ذرات کلوئیدی وجود دارد سبب افزایش ویسکوزیته و تنش تسلیم دوغ می‌شود، که این در بحث بررسی رفتار جریان مشاهده شد. در مطالعه اوزن و کلیک (Ozen & Kilic, 2009) با افزایش سطح جانشینی WPC، اندازه ذرات ابتدا کاهش و سپس افزایش پیدا کرد؛ در مطالعه این پژوهشگران از نسبت‌های بالای پروتئین آب پنیر به کازئین استفاده شده است و فرآیند همگن کردن با روش متفاوتی انجام شد. پووانتایرن و همکاران (Puvanenthiran *et al*,. 2002) اظهار داشتند که با افزایش نسبت پروتئین آب پنیر به کازئین در شیر حرارت دیده شده اندازه ذرات افزایش می‌یابد.

در هر دو روش تولید نمونه‌هایی که فقط تیمار آنزیمی انجام شد (نمونه‌های با کد M5 و Y5) منجر به شکل‌گیری ذرات کوچک‌تری با شکل و توزیع یکنواخت‌تر شد. شاخص اسپان که نماینده گستردگی توزیع اندازه ذرات است در نمونه‌هایی که فقط تیمار آنزیمی انجام گرفت مقادیر نسبتا کمتری داشت که نشان‌دهنده یکنواختی بیشتر ذرات در این نمونه‌هاست. شیر خانی و همکاران (Shirkhani *et al.*, 2015) اظهار داشتند اصلاح و بهبود ساختار پروتئین‌ها با ایجاد پیوندهای جدید کووالانس توسط ترانس‌گلوتامیناز اندازه و نحوه توزیع ذرات را در نمونه های دوغ تحت تأثیر قرار داد و سبب تشکیل ذرات کوچک‌تر شد. براساس جداول ۳ و ۴، نمونه‌های تیمار شده با WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با WPC اندازه ذرات کاهش پیدا کرد؛ ولی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P<0.05)؛ که می‌توان افزایش نسبت پروتئین‌های آب پنیر به کازئین را دلیل این امر دانست. این طور انگاشته می‌شود که در پروتئین‌های آب پنیر، آنزیم عمل ایجاد پیوندهای عرضی را میان این ملکول‌ها با سطح میسل‌های کازئین و با خودشان انجام می‌دهد.

1- Phase Contrast
2- Dark Field
3- Span

جدول ۲- جدول کدگذاری نمونه‌ها
Table 2- Coding table of samples

کد Code	کنسانتره پروتئین آب پنیر Whey Protein Concentrate	آنزیم ترانس گلوتامیناز Transglutaminase enzyme (units per gram of protein)	روش تولید Method of production
M1	1%	0 Unit	Milk شیر
M2	2%	0 Unit	Milk شیر
M3	1%	1 Unit	Milk شیر
M4	2%	1 Unit	Milk شیر
M5	0%	1 Unit	Milk شیر
M6	0%	0 Unit	Milk شیر
Y1	1%	0 Unit	Yogurt ماست
Y2	2%	0 Unit	Yogurt ماست
Y3	1%	1 Unit	Yogurt ماست
Y4	2%	1 Unit	Yogurt ماست
Y5	0%	1 Unit	Yogurt ماست
Y6	0%	0 Unit	Yogurt ماست

جدول ۳- شاخص‌های اندازه ذرات نمونه‌های دوغ تیمار شده با کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به روش تولید دوغ از شیر
Table 3- Particle size indices of doogh samples treated with Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme by fermented milk diluted with water method

Sample نمونه	d(0.1) (μm) شاخص اندازه ذرات	d(0.5) (μm) شاخص اندازه ذرات	d(0.9) (μm) شاخص اندازه ذرات	D[4,3] قطر متوسط ذرات	Span پهنای توزیع ذرات
M1	3.41	9.32	19.02	21.13±2.37[b]	1.67
M2	6.11	17.43	34.78	36.94±2.10[a]	1.64
M3	3.07	8.89	18.26	20.28±1.61[b]	1.70
M4	5.72	16.94	32.73	35.11±1.97[a]	1.59
M5	2.68	6.23	11.12	13.25±1.30[c]	1.35
M6	2.86	6.57	12.92	15.12±1.00[c]	1.53

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪ است.
Similar letters in each column indicate no significant difference at the 95% confidence level.

رفتار جریان

رفتار جریان مستقل از زمان نمونه‌های دوغ در دامنه درجه برش بین ۱/۳۴ تا ۳۰۰ بر ثانیه اندازه‌گیری شد. شکل‌های ۱ و ۲ نمودارهای جریان و شکل‌های ۳ و ۴ نمودار تغییرات ویسکوزیته ظاهری نمونه های دوغ را نشان می‌دهد. بررسی نمودارهای رفتار جریان نشان داد که نمونه‌های بدون WPC و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با ماده خشک کل ۶/۵ درصد و در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد رفتاری نزدیک به رفتار نیوتنی دارند و در محدوده درجه برش ۱/۳۴ تا ۳۰۰ بر ثانیه با افزایش درجه برش، تنش برشی با آهنگ ثابتی تغییر می‌کند. همچنین ویسکوزیته ظاهری با افزایش درجه برش تقریبا ثابت ماند.

کیانی و همکاران (Kiani *et al*., 2008) رفتار جریانی دوغ صنعتی با ماده خشک ۵ درصد را نیوتنی ارزیابی کرده و اظهار داشتند دوغ در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، ویسکوزیته بین ۱ تا ۲ میلی‌پاسکال ثانیه دارد. ساختار فیزیکی دوغ متشکل از ذرات کلوئیدی پراکنده در فاز آبی است. مقدار حجمی ذرات پروتئینی و برهم‌کنش بین این ذرات تعیین کننده نوع رفتار جریانی دوغ است. در دوغ بدون پایدار کننده با ماده خشک پایین فاصله بین ذرات به حدی است که امکان ایجاد اتصالات عرضی وجود ندارد و باعث می‌شود که در درجه برش پایین و بالا، تنش برشی دارای تناسب ثابت با درجه برش باشد. در صورتی‌که ماده خشک افزایش یابد یا اندازه حجمی ذرات بیشتر شود، ویسکوزیته ظاهری افزایش پیدا می‌کند (Koksoy & Kilic, 2003).

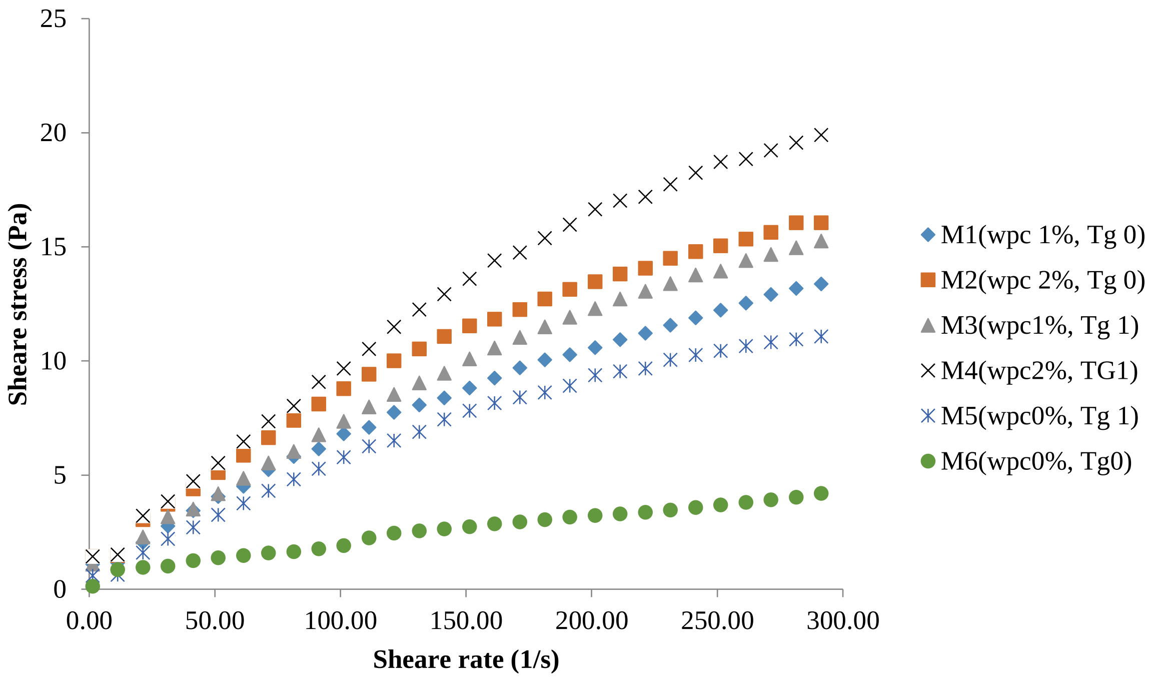
جدول ٤- شاخص‌های اندازه ذرات نمونه‌های دوغ تیمار شده با کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به روش تولید دوغ از ماست

Table 4- Particle size indices of doogh samples treated with Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme by adding water to yogurt method

Sample نمونه	d(0.1) (µm) شاخص اندازه ذرات	d(0.5) (µm) شاخص اندازه ذرات	d(0.9) (µm) شاخص اندازه ذرات	D[4,3] قطر متوسط ذرات	Span پهنای توزیع ذرات
Y1	4.12	10.10	19.85	21.96±2.92[b]	1.55
Y2	6.91	18.31	35.73	37.89±2.51[a]	1.57
Y3	3.57	9.44	18.89	20.91±2.23[b]	1.62
Y4	6.12	17.42	33.31	35.69±1.14[a]	1.56
Y5	2.92	6.51	11.52	13.65±1.32[c]	1.32
Y6	3.24	7.03	13.42	15.62±1.00[c]	1.44

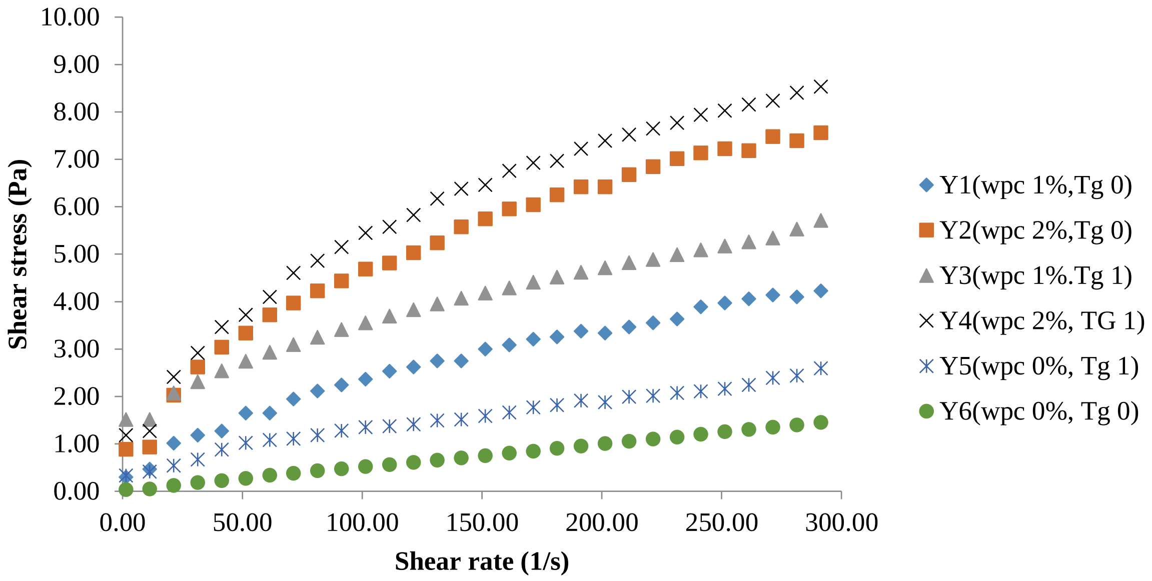
حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪ است.

Similar letters in each column indicate no significant difference at the 95% confidence level.



شکل ۱- نمودار جریان نمونه‌های دوغ حاوی کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تهیه شده به روش تولید مستقیم دوغ از شیر

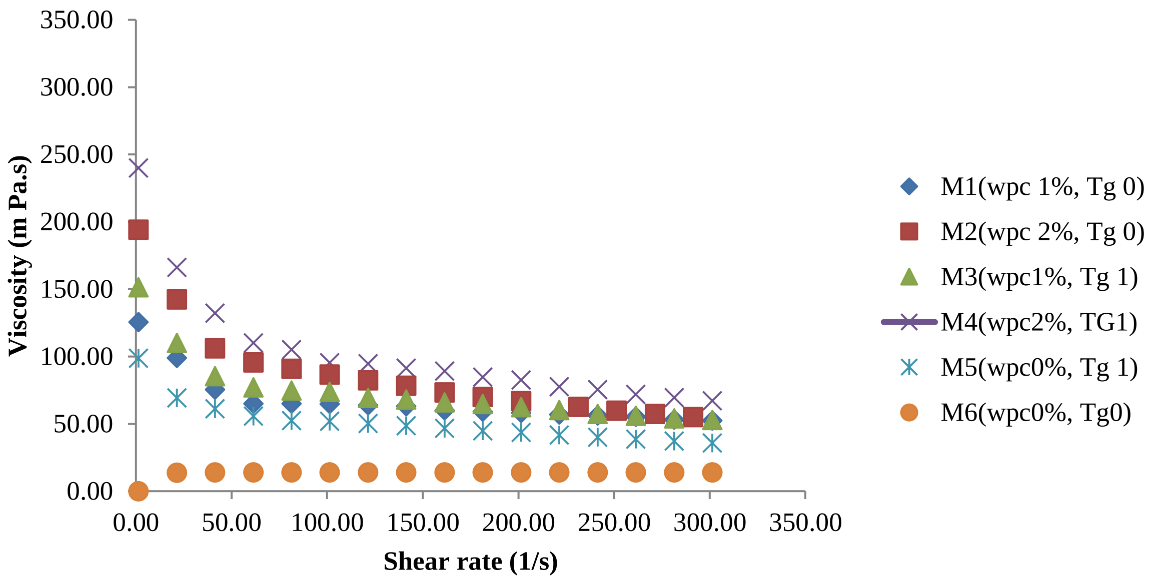
Fig. 1. Flow diagram of doogh samples containing Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme prepared by fermented milk diluted with water method



شکل ۲- نمودار جریان نمونه‌های دوغ حاوی کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تهیه شده به روش تولید دوغ از ماست
Fig. 2. Flow diagram of doogh samples containing Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme prepared by adding water to yogurt method

اثر WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز بر رفتار جریان

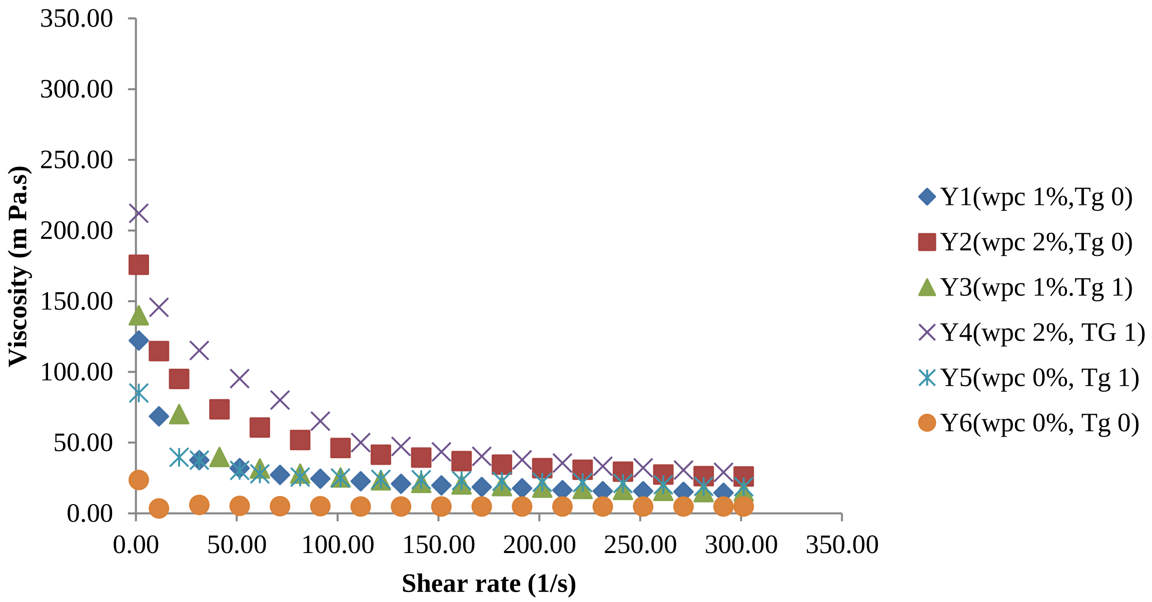
در نمونه‌های دوغ تولید شده با هر دو روش تولید، WPC و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز باعث تغییر رفتار جریان دوغ به سمت رفتار غیر نیوتنی شدند. در درجه‌های برش پایین مقدار ویسکوزیته ظاهری بالاست و با افزایش درجه برش ویسکوزیته سریع کاهش پیدا می‌کند (شکل‌های ۳ و ۴). چنین رفتاری در ماست نوشیدنی و ماست‌های همزده نیز گزارش شده است (Afonso & Maya, 1999; Patocka *et al.*, 2006; Jaros *et al.*, 2007).



شکل ۳- نمودار ویسکوزیته نمونه‌های دوغ حاوی کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تهیه شده به روش تولید مستقیم دوغ از شیر
Fig. 3. Viscosity diagram of doogh samples containing Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme prepared by fermented milk diluted with water method

استفاده از WPC و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز باعث ایجاد شبکه‌ای شده که در درجه برش پایین در برابر حرکت مقاومت ایجاد کرده و ویسکوزیته ظاهری را افزایش می‌دهد، ولی در درجه برشی بالاتر به دلیل حذف نیروهای ضعیف، ملکول‌ها با جریان هم جهت شده و ویسکوزیته کاهش می‌یابد و تناسب بین درجه برش و تنش برش به ثبات می‌رسد.

با افزایش مقدار WPC و همچنین اعمال تیمار آنزیمی، انحراف از رفتار نیوتنی تشدید شد. در نمونه‌های دوغ تولید شده از شیر، نمونه با کد M4(wpc 2%, Tg 1u)، در درجه‌های برش پایین بالاترین ویسکوزیته و همچنین در درجه‌های برش بالاتر نیز ویسکوزیته نسبتا بالاتری نسبت به بقیه نمونه‌های این گروه داشت. در نمونه‌ای دوغ تولید شده از ماست نیز نمونه با کد Y4(wpc 2%, Tg 1u)، در درجه های برش پایین دارای ویسکوزیته بیشتر و در درجه‌های برش بالا ویسکوزیته تقریبا مشابهی با نمونه با کد Y2(wpc 2%, Tg 0 u) داشت؛ ولی ویسکوزیته نسبتا بالاتری نسبت به بقیه نمونه‌های این گروه داشتند.



شکل ٤- نمودار ویسکوزیته نمونه‌های دوغ حاوی کنسانتره پروتئین آب پنیر و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز تهیه شده به روش تولید دوغ از ماست

Fig. 4. Viscosity diagram of buttermilk samples containing Whey Protein Concentrate and transglutaminase enzyme prepared by adding water to yogurt method

اثر روش تولید بر رفتار جریان

با توجه به شکل‌های ۱ تا ۴ نمونه‌هایی که به‌طور مستقیم از شیر تهیه شده بودند (نمونه‌های دارای کد M) به طرز قابل توجهی از نمونه های تهیه شده از ماست (نمونه‌های دارای کد Y) ویسکوزیته بالاتری داشتند. به نظر می‌رسد اضافه کردن آب قبل از اسیدی کردن شیر باعث می‌شود که میزان آب بیشتری توسط پروتئین‌ها در طول تخمیر در شبکه ژلی گرفتار شود؛ این در حالی است که آب افزوده شده با ماست برای ساخت دوغ نمی‌تواند به خوبی با پروتئین‌ها که اکنون به‌صورت تکه‌های ژلی هستند برهم کنش داشته باشد.

تنش تسلیم

افزایش مقدار WPC و افزودن آنزیم ترانس گلوتامیناز باعث بالا رفتن نمودار جریان و ایجاد عرض از مبدأ ناشی از تنش تسلیم می‌شود. تنش تسلیم عامل مهمی در پایداری نوشیدنی‌های لبنی اسیدی می باشد؛ به‌طوری‌که بالاتر بودن این مقدار نشان دهنده وجود شبکه ژلی است؛ که باعث کاهش سرعت حرکت ذرات معلق ناپایدار در نوشیدنی و افزایش پایداری فیزیکی می‌گردد (Kiani *et al*., 2010).

در اثر هی پروتئین‌های آب پنیر ذرات ژل ایجاد می‌شود. همچنین بخشی از پروتئین آب پنیر با کازئین پیوند برقرار می‌کند که این عمل در اثر فعالیت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز انجام می‌گردد. طی فرایند اسیدی شدن شیر در اثر تخمیر امکان اتصال بین ترکیب‌های جدا شده پروتئین

آب پنیر دناتوره شده و ذرات کازئین نیز وجود دارد (Puvanenthiran *et al*,. 2002). مجموعه این عوامل باعث ایجاد شبکه سه بعدی در دوغ می‌شود. افزایش مقدار WPC مقدار پروتئین آب پنیر را افزایش داده، و افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز سبب ایجاد اتصالات عرضی بین پروتئین‌های آب پنیر و کازئین می‌شود؛ که این عوامل قدرت ژلی را افزایش می‌دهد، که در نتیجه نیروی لازم برای برش ژل نیز افزایش یافته و سبب افزایش تنش تسلیم نمونه‌های حاوی WPC و آنزیم می شود؛ که در نمونه‌های دارای غلظت بالاتر WPC و دارای آنزیم ترانس گلوتامیناز مشهودتر می‌باشد. اوزن و کلیک (Ozen & Kilic, 2009) افزایش تنش تسلیم محاسبه شده با مدل هرشل بالکی را برای نمونه های نوشیدنی اسیدی با افزایش مقدار WPC گزارش کردند. با افزایش مقدار WPC تا سطح ۳ درصد، در نتیجه ناپایدار شدن ساختار، تنش تسلیم کاهش پیدا کرد. کیانی و همکاران (Kiani *et al*., 2010). دلیل افزایش تنش تسلیم دوغ حاوی ژلان را ناشی از ایجاد یک شبکه سه بعدی حاوی ذرات ژل مایع ژلان دانستند؛ که در برابر تنش ناشی از سقوط ذرات مقاومت ایجاد کرده و همچنین ذرات کلوئیدی دوغ با این ذرات دارای پیوند فیزیکی هستند. کیوکشین (Kücükcetin, 2008) گزارش کرد که با کاهش نسبت کازئین به پروتئین آب پنیر تنش تسلیم ماست همزده افزایش پیدا می کند.

رفتار شل شوندگی

با توجه به شکل‌های ۱ تا ۴ مشاهده می‌شود که در تمام تیمارهای انجام شده حاوی WPC و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز ویسکوزیته با افزایش درجه برش کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده رفتار شل‌شوندگی با برش می‌باشد. بررسی داده‌های بدست آمده از برازش دو مدل قانون توان و هرشل بالکی نشان داد که مدل قانون توان برای توصیف رفتار شل شوندگی نمونه‌های دوغ مناسب‌تر است. محققان دیگری نیز مدل قانون توان را برای توصیف رفتار جریان ماست نوشیدنی بکار بردند (Penna *et al*., 2001; Janhoj *et al*., 2008; Gorji *et al*., 2011) . شاخص‌های محاسبه شده مدل قانون توان در جدول ۵ ارائه شده است.

داده‌های نشان داده شده در جدول ۵ حاکی از آن است که افزودن WPC و تیمار آنزیمی با ترانس‌گلوتامیناز، به طرز قابل توجهی ضریب قوام (k) و ویسکوزیته نمونه‌های دوغ را افزایش داد؛ به‌علاوه بکارگیری ترانس‌گلوتامیناز و WPC در هر دو روش تهیه دوغ باعث کاهش شاخص رفتار جریان (n) دوغ شد. قابل ذکر است که هر چه مقدار عددی n از یک به سمت صفر نزدیک شود خصوصیات رفتار جریان از نیوتنی به شل‌شونده با برش نزدیک‌تر خواهد شد (Bourne, 2002). بنابراین افزودن WPC و تیمار آنزیمی با ترانس‌گلوتامیناز توانسته است خصوصیات سودوپلاستیک نمونه‌های دوغ را بالا ببرد. ضریب قوام و ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های M4 و Y4 در میان نمونه‌های گروه‌های مربوط به خود بالاترین ویسکوزیته ظاهری و ضریب قوام را داشتند (جدول ۵). این امر به این دلیل است که پس از تیمار حرارتی نسبتا شدید (۸۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ دقیقه) پروتئین‌های آب پنیر نیز به فعالیت آنزیمی حساس می‌شوند و تحت تأثیر تیمار با آنزیم قرار می گیرند و در نتیجه باعث بهبود ساختار تکه‌های ژلی پروتئین‌ها می گردد. مشابه این نتایج توسط سانلی و همکاران (Sanli *et al*., 2011) در ماست قالبی گزارش شده است. میسل‌های کازئین به فعالیت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بسیار حساس هستند که این امر به ساختار زنجیر مانند آن‌ها نسبت داده می‌شود (Sharma *et al*., 2001)؛ این در حالتی است که پروتئین‌های آب پنیر در حالت طبیعی خود به عمل آنزیم کمتر حساس هستند زیرا پیوندهای دی‌سولفید درون ساختاری، دسترسی آنزیم به قسمت‌های درگیر در هم تنیده شده را محدود می‌نماید (Faergemand *et al*., 1997). واسرشته کردن پروتئین‌های آب پنیر با حرارت و یا با استفاده از مواد کاهنده می‌تواند حساسیت آن‌ها به آنزیم را بالاتر ببرد (Sharma *et al*., 2001 ؛ Rodriguez-Nogales, 2006).

ریزساختار

ریزساختار نمونه‌های دوغ تیمار شده با WPC و آنزیم ترانس گلوتامیناز با دو روش تولید متفاوت در شکل ۵ نشان داده شده است. ذرات پروتئینی با استفاده از رنگ رودامین رنگ‌آمیزی شده و به شکل شفاف در زمینه تاریک قابل مشاهده است. ذرات به شکل کلوئیدی نامنظم و در اشکال و اندازه‌های گوناگون وجود دارد. ذرات دوغ در واقع توده‌های پروتئینی هستند که در ابتدا درون شبکه سه بعدی ژل اسیدی ماست قرار داشتند؛ که در اثر همزنی ناشی از همگن‌سازی شبکه شکسته شده و ذرات دوغ تشکیل می‌شود. ذرات دوغ از لحاظ اندازه معادل صدها میسل کازئین هستند (Kiani *et al*., 2008).

در نمونه‌های بدون اعمال تیمار آنزیمی، ریزساختار به شکل صاف و همگن با ذرات کوچک‌تر نسبت به سایر نمونه‌ها مشاهده می‌شود. این ذرات خیلی سریع ته‌نشین می‌شوند و دو فاز شدن رخ می‌دهد. در نمونه هایی که تیمار WPC اعمال شد با افزایش مقدار WPC، ایجاد ذرات بزرگ و عدم یکنواختی بیشتر می‌شود. فرآیند همگن کردن اگرچه باعث کاهش اندازه ذرات می‌گردد ولی در نمونه‌های WPC، ذرات ژل موجود در سرم، شبکه سه بعدی تشکیل داده که باعث ایجاد توده ذرات بزرگی در دوغ می‌شود. این ذرات در توزیع گسترده‌ای در کل سامانه پراکنده شده‌اند. از ویژگی‌های این شبکه ایجاد تنش تسلیم، ایجاد حالت شل شوندگی و افزایش قوام دوغ است.

جدول ۵- شاخص‌های محاسبه شده توسط مدل قانون توان

Table 5- Indexes calculated by power law model

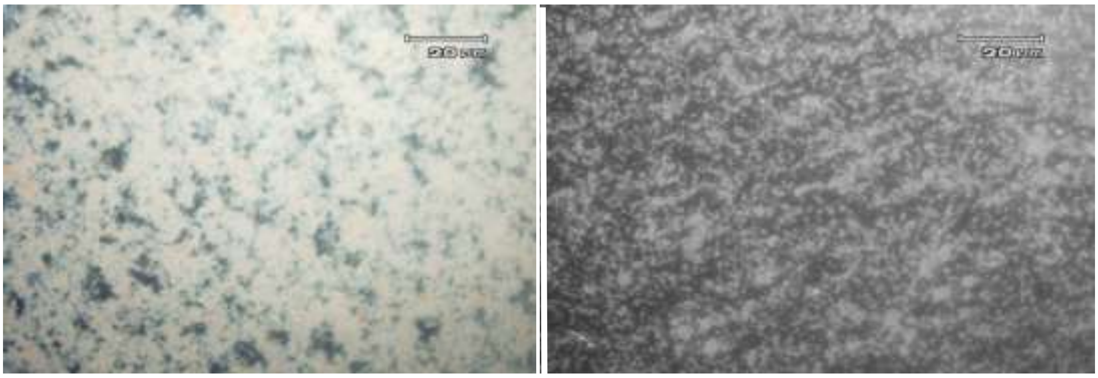
Treatment تیمار	Coefficient of consistency (mPa.s^n)(k) ضریب قوام	n شاخص رفتار جریان	R^2	Adj-R^2	RMSE
M1	478.27±4.16^f	0.6392±0.008^d	0.9961	0.996	0.2857
M2	569.10±5.74^c	0.4889±0.007^h	0.9931	0.9928	0.3913
M3	543.18±6.56^d	0.5892±0.008^f	0.9948	0.9946	0.3445
M4	725.55±9.52^a	0.2194±0.008^j	0.9938	0.9936	0.4633
M5	393.56±6.25^h	0.7383±0.009^c	0.9937	0.9935	0.2854
M6	138.37±3.86^j	0.9201±0.004^b	0.9873	0.9869	0.3721
Y1	414.28±6.01^g	0.7489±0.014^c	0.9948	0.9946	0.0844
Y2	552.60±10.42^d	0.5397±0.010^g	0.9945	0.9943	0.1524
Y3	506.15±3.79^e	0.6144±0.018^e	0.9943	0.9941	0.0884
Y4	665.03±8.70^b	0.3214±0.015^i	0.9932	0.993	0.1782
Y5	299.80±6.57^i	0.7483±0.002^c	0.9991	0.999	0.0135
Y6	69.48±5.31^k	0.9783±0.008^a	0.9969	0.9968	0.1523

حروف مشابه در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۵٪ است.

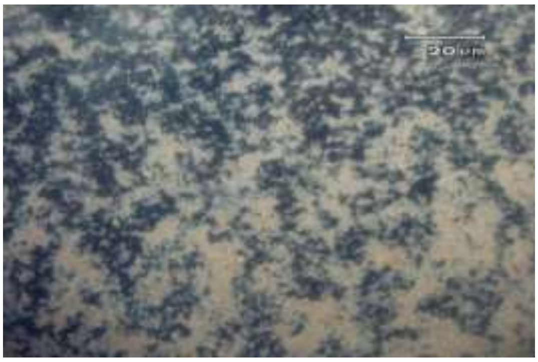
Similar letters in each column indicate no significant difference at the 95% confidence level.

در نمونه‌هایی که تیمار آنزیمی اضافه گردید، در هم تنیده شدن پروتئین‌ها توسط آنزیم ترانس‌گلوتامیناز منجر به توزیع سازمان یافته‌تر و شبکه منظم‌تری از خوشه‌های پروتئینی در نمونه‌های دوغ می‌شود که در نتیجه آن منفذهای حاوی آب میان آن‌ها کوچک‌تر دیده می‌شود. فارگمنت و کویست (Færgemand & Qvist, 1997) ذکر کرده‌اند که برهم‌کنش‌های میان میسل‌های کازئین، به دلیل پیوندهای جدید ایجاد شده توسط آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در سطح و تا حدی درون آن ها، تغییر می‌یابد که متعاقب آن ریزساختار شبکه‌ای پروتئین عوض می شود و ژلاسیون آن‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد.

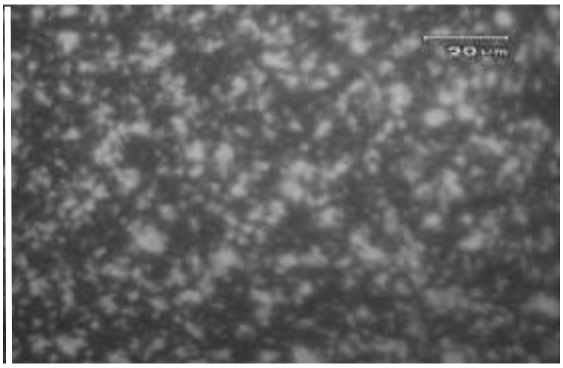
همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، توزیع ذرات در نمونه‌های دارای کد M که از تخمیر شیر رقیق شده با آب تهیه شده‌اند نسبت به انواع Y (تهیه شده از رقیق‌سازی ماست)، منظم‌تر است. می‌توان نتیجه گرفت که اضافه کردن آب قبل از تخمیر، باعث تجمع مرتب‌تر میسل های کازئین در مقایسه با افزودن آب به ماست (بعد از تخمیر) می‌گردد. هرچه توزیع ذرات منظم‌تر باشد، منافذ حاوی آب و خوشه‌های کازئینی کوچک‌تر هستند و آب کمتری از این شبکه‌ها به بیرون تراوش می‌کند (Schorsch *et al.*, 2000).



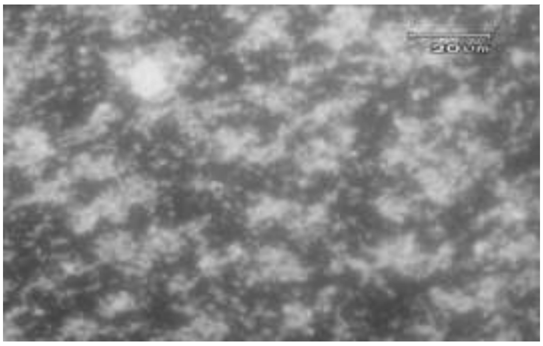
M1 Y1



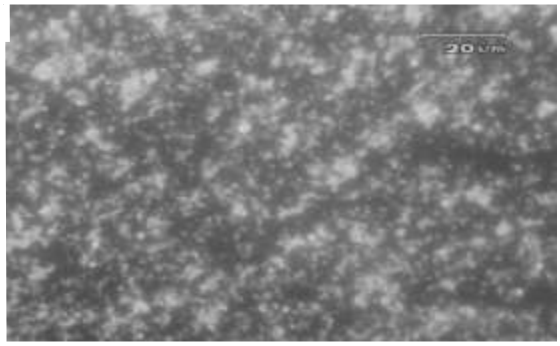
M2



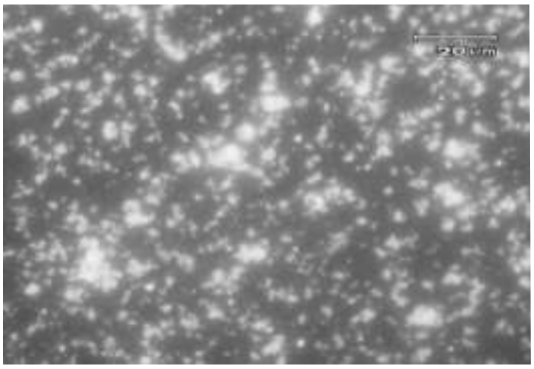
Y2



M3



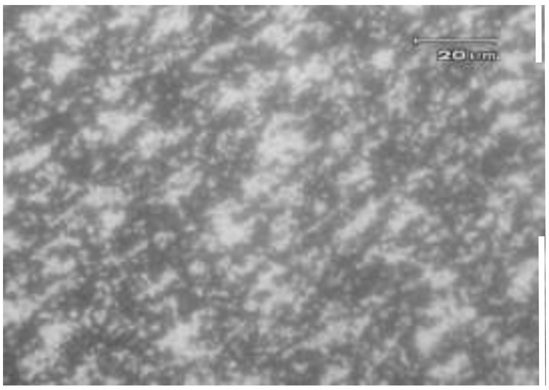
Y3



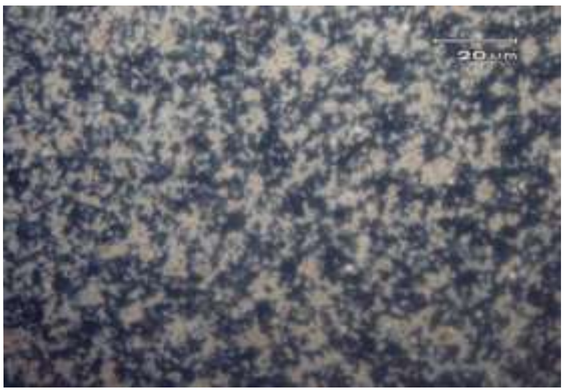
M4



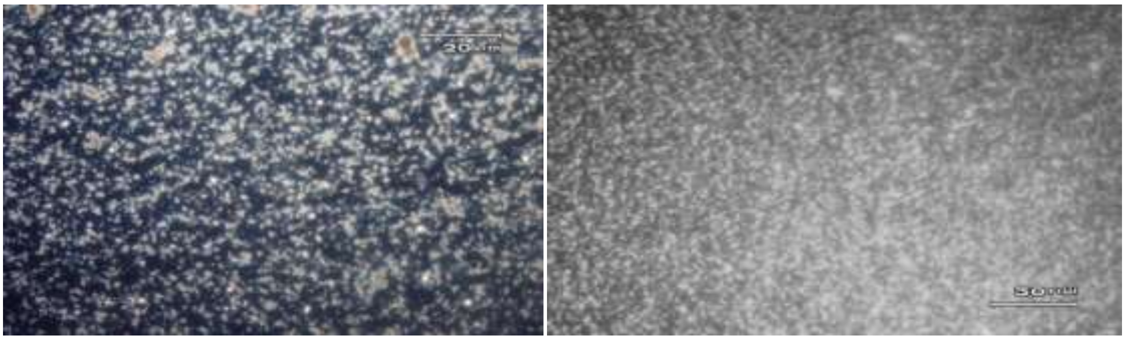
Y4



M5



Y5



M6 Y6

شکل ۵- ریزساختار نمونه‌های تولید شده تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده

Fig. 5. The microstructure of the samples produced under the influence of the applied treatments

نتیجه‌گیری

در این پژوهش از کنسانتره پروتئین آب پنیر (WPC) با هدف بهره گیری از خواص عملکردی پروتئین‌های آب پنیر و همچنین آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با هدف ایجاد اتصالات عرضی بین ملکولی و درون ملکولی بین کازئین و پروتئین‌های آب پنیر استفاده شد. نمونه‌ها به دو روش تولید (تولید دوغ از شیر و تولید دوغ از ماست) تهیه شده و ویژگی های محصول نهایی مورد ارزیابی قرار گرفت. افزودن WPC و تیمار آنزیمی با ترانس‌گلوتامیناز به طرز قابل توجهی ضریب قوام و ویسکوزیته نمونه‌های دوغ را افزایش و اندازه ذرات را کاهش داد و همچنین رفتار شل‌شوندگی با برش تشدید شد. این نتایج نشان می‌دهد که WPC سبب ایجاد شبکه ژل در دوغ گردیده که آنزیم ترانس گلوتامیناز با مرتب کردن این ساختار سبب بهبود خصوصیات فیزیکی نمونه‌های دوغ شد؛ که بررسی ریزساختار نمونه‌های دوغ نیز مؤید این مسئله می‌باشد. روش تهیه دوغ هم عامل تأثیرگذار دیگری در ویژگی های فیزیکی این محصول بود. نمونه‌هایی که به‌صورت مستقیم از شیر رقیق شده بدست آمدند خصوصیات فیزیکی بهتری نسبت به نمونه هایی که پس از افزودن آب به ماست تولید شدند از خود نشان دادند. در مجموع از بین تیمارهای مورد بررسی تیمار حاوی ۲ درصد WPC و یک واحد آنزیم که با روش تولید دوغ به‌طور مستقیم از شیر تهیه شدند پیشنهاد می‌گردد.

References

1. Afonso, I.M., & Maia, J.M. (1999). Rheological monitoring of structure evolution and development in stirred yoghurt. *Journal of Food Engineering*, *42*(4), 183-190. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(99)00118-1
2. Beirami-Serizkani, F., Hojjati, M., & Jooyandeh, H. (2021). The effect of microbial transglutaminase enzyme and Persian gum on the characteristics of traditional kefir drink. *International Dairy Journal*, *112*(10). https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104843
3. Danesh, E., Jooyandeh, H., Samavati, V., & Goudarzi, M. (2017). Effect of enzymatic transglutaminase treatment on textural and sensory properties of low-fat Uf-Feta cheese incorporated with whey proteins using response surface optimization. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, *13*(42), 282-294. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.v1395i0.45870
4. Danesh, E., Goudarzi, M., & Jooyandeh, H.(2018). Transglutaminase-mediated incorporation of whey protein as fat replacer into the formulation of reduced-fat Iranian white cheese: physicochemical, rheological and microstructural characterization. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *12*(4), 2416-2425. https://doi.org/10.1007/s11694-018-9858-5
5. Danesh, E., Goudarzi, M., & Jooyandeh, H. (2017). Effect of whey protein addition and transglutaminase treatment on the physical and sensory properties of reduced-fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, *100*(7), 5206-5211. https://doi.org/10.3168/jds.2016-12537
6. Bourne, M.C. (2002). *Food Texture and viscosity. Consept and Measurment.*, New York, Academic press, p.p, 214.
7. Færgemand, M., & Qvist, K.B. (1997). Transglutaminase: effect on rheological properties, microstructure and permeability of set style acid skim milk gel. *Food Hydrocolloids*, *11*(3), 287-292. https://doi.org/10.1016/S0268-005X(97)80058-6
8. Faergemand, M., Otte, J., & Qvist, K.B. (1997). Enzymatic cross-linking of whey proteins by a Ca^{2+}-independent microbial transglutaminase from Streptomyces lydicus. *Food Hydrocolloids*, *11*(1), 19-25. https://doi.org/10.1016/ S0268-005X(97)80006-9

9. Foroughi Nia, S., Abasi, S., & Hamidi Esfahani, Z. (2007). Effect of individual and combined addition of salep, tragacantin and guar gums on the stabilisation of Iranian doogh. *Journal of Nutrition Scincce & Food Technology*, *2*(2), 15-25
10. Foroughi Nia, S., Abasi, S., & Hamidi Esfahani, Z. (2009). Influence of shear stirring and homogenization on serum separation of doogh. *Electronic Journal of Food Processing and Preservation*, *1*(3), 83-100. https://doi.org/20.1001.1.24233544.1388.1.3.5.9
11. Gorji, E.G., Mohammadifar, M.A., & Ezzatpanah, H. (2011). Influence of gum tragacanth, *Astragalus gossypinus*, addition on stability of nonfat Doogh, an Iranian fermented milk drink. *International Journal of Dairy Technology*, *64*(2), 262-268. https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00658.x
12. Janhøj, T., Frøst, M.B., & Ipsen, R. (2008). Sensory and rheological characterization of acidified milk drinks. *Food Hydrocolloids*, *22*(5), 798-806. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.03.006
13. Jaros, D., Heidig, C., & Rohm, H. (2007). Enzymatic modification through microbial transglutaminase enhances the viscosity of stirred yogurt. *Journal of Texture Studies*, *38*(2), 179-198. https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2007.00093.x
14. Kiani, H., Mousavi, M.E., Razavi, H., & Morris, E.R. (2010). Effect of gellan, alone and in combination with high-methoxy pectin, on the structure and stability of doogh, a yogurt-based Iranian drink. *Food Hydrocolloids*, *24*(8), 744-754. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.03.016
15. Kiani, H., Mousavi, S.M.A., & Emam-Djomeh, Z. (2008). Rheological properties of Iranian yoghurt drink, Doogh. *International Journal of Dairy Science*, *3*(2), 71-78. https://doi.org/10.3923/ijds.2008.71.78
16. Kiani, H., Ebrahimzadeh Mousavi, S.M.A., Razavi, S.H., Yarmand, M.S., & Dini, A. (2009). Effect of source and amount of total solids content on the rheological properties and stability of non-fat doogh. *Journal Of Agricultural Engineering Rresearch*, *10*(3),45-56.
17. Köksoy, A., & Kılıç, M. (2003). Effects of water and salt level on rheological properties of ayran, a Turkish yoghurt drink. *International Dairy Journal*, *13*(10), 835-839. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00103-1
18. Koksoy, A., & Kilic, M. (2004). Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. *Food Hydrocolloids*, *18*(4), 593-600. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.10.002
19. Kücükcetin, A. (2008). Effect of heat treatment and casein to whey protein ratio of skim milk on graininess and roughness of stirred yoghurt. *Food Research International*, *41*(2), 165-171. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.11.003
20. Lorenzen, P.C., Neve, H., Mautner, A., & Schlimme, E. (2002). Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, *55*(3), 152-157. https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2002.00065.x
21. Nilson, L.-E., Lyck, S., & Tamime, A.Y. (2006). Production of drinking products. *In:* Tamime, A. (ed.) *Fermented Milks.* UK: Society of Dairy Tehnology-Blackwell Science Ltd, p.p, 95-127.
22. Ozen, A.E., & Kilic, M. (2009). Improvement of physical properties of nonfat fermented milk drink by using whey protein concentrate. *Journal of Texture Studies*, *40*(3), 288-299. https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2009.00182.x
23. Patocka, G., Cervenkova, R., Narine, S., & Jelen, P. (2006). Rheological behaviour of dairy products as affected by soluble whey protein isolate. *International Dairy Journal*, *16*(5), 399-405. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.05.010
24. Penna, A.L.B., Sivieri, K., & Oliveira, M.N. (2001). Relation between quality and rheological properties of lactic beverages. *Journal of Food Engineering*, *49*(1), 7-13. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00179-5
25. Puvanenthiran, A., Williams, R.P.W., & Augustin, M.A. (2002). Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, *12*(4), 383-391. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00033-X
26. Rodriguez-Nogales, J.M. (2006). Effect of preheat treatment on the transglutaminase-catalyzed cross-linking of goat milk proteins. *Process Biochemistry*, *41*(2), 430-437. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.07.009
27. Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., & Vernon-Carter, E.J. (2004). Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, *14*(2), 151-159. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00166-3
28. Şanli, T., Sezgin, E., Deveci, O., Şenel, E., & Benli, M. (2011). Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt. *Food Hydrocolloids*, *25*(6), 1477-1481. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.09.028
29. Schorsch, C., Carrie, H., & Norton, I.T. (2000). Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase: influence of cross-links in acid-induced gelation. *International Dairy Journal*, *10*(8), 529-539. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00069-8

30. Shahidi, F., Ehtiati, A., Mohebi, M., & Yavarmanesh, M. (2013). The effect of WPC and starters producing exopolysaccharide on the physical properties of doogh. *Iranian Food Science and Technology*, *9*(4), 295-303. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.v9i4.30072
31. Sharma, R., Lorenzen, P.C., & Qvist, K.B. (2001). Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of ε-(γ-glutamyl) lysine and the susceptibility of individual proteins towards crosslinking. *International Dairy Journal*, *11*(10), 785-793. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00096-6
32. Shirkhani, M., Madadlou, A., & Khosrowshahi, A. (2015). Enzymatic modification to stabilize the fermented milk drink, doogh. *Journal of Texture Studies*, *46*(1), 22-33. https://doi.org/10.1111/jtxs.12107
33. Ye, A., & Taylor, S. (2009). Characterization of cold-set gels produced from heated emulsions stabilized by whey protein. *International Dairy Journal*, *19*(12), 721-727. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.06.003